

VARIASI GENETIK IKAN TUNA SIRIP KUNING, *Thunnus albacares* DENGAN ANALISIS ELEKTROFORESIS ALLOZYME DAN Mt-DNA

Gusti Ngurah Permana^{*)}, Jhon Harianto Hutapea^{*)}, Haryanti^{*)}, dan Sari Budi Moria Sembiring^{*)}

ABSTRAK

Sampel ikan tuna sirip kuning, *T. albacares* diambil dari tiga lokasi (perairan Bali, Sulawesi Utara, dan Maluku Utara) dan dilakukan analisis variasi genetik dengan metode elektroforesis allozyme menggunakan 15 enzim dan mt-DNA dengan 4 enzim restriksi. Hasil penelitian ini diperoleh 4 lokus enzim polimorfik yaitu: Idh-2* (*isocitrate dehydrogenase*), Gpi-2* (*glucose phosphatase dehydrogenase*), Mdh-1* (*malate dehydrogenase*), dan Est-1* (*esterase*). Frekuensi alel allozyme terlihat adanya perbedaan yang nyata ($F_{st} = 0,12$; $P < 0,05$) antar lokasi yaitu Bali (A, B, C, D), Sulawesi Utara dan Maluku Utara (A, B, C). 15 komposit haplotipe ditemukan pada populasi Bali, Sulawesi Utara, dan Maluku Utara. *Haplotype diversity* pada populasi Bali 0,886; Sulawesi Utara 0,790; dan Maluku Utara 0,785; dengan rata-rata dari *haplotype diversity* adalah 0,857. Jarak genetik dari ketiga populasi berkisar antara 0,003--0,023 (rata-rata 0,016). Populasi Maluku Utara dan Sulawesi Utara mempunyai jarak genetik terdekat yaitu 0,003. Hal ini merupakan indikator bahwa Sulawesi Utara dan Maluku Utara sering digunakan sebagai jalur migrasi dengan adanya kesamaan alel yang ditemukan pada kedua populasi tersebut, jika dibandingkan dengan populasi Bali (0,023).

ABSTRACT: *Genetic variation of yellow fin tuna, Thunnus albacares inferred by allozyme electrophoresis and mt-DNA analysis. By: Gusti Ngurah Permana, Jhon Harianto Hutapea, Haryanti, and Sari Budi Moria Sembiring*

Samples of yellow fin tuna T. albacares were taken from three locations i.e. Bali, North Sulawesi, North Maluku, and analyzed by allozyme electrophoresis using 15 enzymes and mt-DNA amplification using PCR and then digested by 4 restriction enzymes. Result of this research is found that 4 loci polymorphism in allozyme i.e. GPI, EST, IDH, and MDH. Frequency of allel allozymes shown significantly differences ($F_{st} = 0.12$, $P < 0.05$) at total data locus from each location of Bali (A, B, C, D), North Sulawesi and North Maluku (A, B, C). 15 composite haplotype of mt-DNA refound from Bali, North Sulawesi, and North Maluku populations. Haplotype diversity of Bali (0.886), North Sulawesi (0.790), and North Maluku (0.785), with average: 0.857. Genetic distances of third populations were ranged from 0.003--0.023 (average: 0.016). North Maluku and North Sulawesi populations have closest genetic distance (0.003), this is indicated that North Sulawesi and North Maluku populations is often used as strip of migration which an existence equally of allel at both of populations than compared with Bali population (0.023).

KEYWORDS: *allozyme, mt-DNA, genetic, yellowfin tuna*

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

PENDAHULUAN

Ikan tuna sirip kuning (*yellowfin tuna*), *Thunnus albacares* merupakan salah satu spesies ikan yang mempunyai nilai ekonomis penting dalam perikanan di dunia (Gambar 1). Mulai tahun 2002 upaya domestikasi dan perbenihan ikan tuna sirip kuning dalam bak terkontrol telah dilakukan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali. Pengembangan program domestikasi dapat mengurangi tekanan pada populasi alam dan untuk mengembangkan industri perbenihan dengan tetap melakukan monitoring terhadap variasi genetiknya (Hedgecock *et al.*, 1976; Lester, 1983; Taniguchi *et al.*, 1994).

Genetika populasi ikan tuna dengan cakupan geografis dari seluruh laut Indonesia mempunyai struktur yang berbeda-beda sebagai akibat adanya keterbatasan laju migrasi gen. Bukti pembedaan stok yang kecil ditemukan di dalam dua jenis ikan hiu (Lavery & Shaklee, 1989), empat spesies cumi-cumi (Yeatman & Benzie, 1994), perbedaan struktur populasi ini juga ditemukan pada tiram mutiara (*pearl oyster*) (Johnson & Joll, 1993). Variasi genetik suatu populasi merupakan sumber daya biologi yang penting untuk diketahui serta mempunyai manfaat untuk penentuan strategi pembenihan terutama dalam menentukan calon induk yang mempunyai kualitas genetik tinggi. Deteksi variasi genetik secara elektroforesis (Sugama & Priyono, 1998), dan mt-DNA dapat digunakan sebagai *marker* genetik. Metode ini telah banyak digunakan untuk mengetahui variasi genetik dan telah dicobakan pada beberapa jenis ikan antara lain ikan bandeng dan *Red Sea Bream* (Sugama, *et al.*, 1988), *Cheilinus undulatus* (Wibowo, 2001), *Penaeus monodon* (Sugama *et*

al., 1996; Imron *et al.*, 1999) dan *Lutjanus malabaricus* (Elliott, 1996). Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui variasi genetik ikan tuna dari tiga populasi dengan menggunakan metode allozyme dan mt-DNA sebagai data dasar untuk melakukan program *breeding* yang terarah.

MATERI DAN METODE

Sampel diambil dari tiga lokasi perairan (Gambar 2) yaitu: Bali (perairan Bali Utara), Sulawesi Utara (Kalesey), dan Maluku Utara (Ternate, Kodya). Sampel yang dipergunakan untuk analisis allozyme adalah: otot daging, liver, jantung, dan mata sedangkan untuk analisis mt-DNA ekstraksi dari jaringan otot daging.

Sampel ikan tuna dari Bali, Sulawesi Utara, dan Maluku Utara memiliki kisaran panjang cagak rata-rata setiap populasi adalah $78,72 \pm 12,89$ cm; $78,99 \pm 12,89$; dan $72,54 \pm 38,89$ cm serta bobot rata-rata $10,7 \pm 6,92$; $10,5 \pm 4,39$; dan $12,28 \pm 6,45$ kg (Tabel 1).

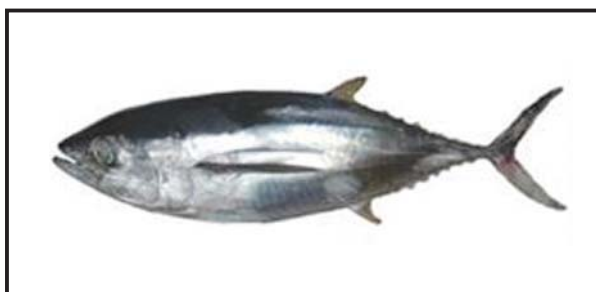
Analisis Allozyme

◆ Preparasi jaringan

Sampel diambil dan dibawa ke laboratorium dalam keadaan segar. Jaringan disayat dan dimasukkan dalam *plate* sampel. Jaringan mata, otot daging, jantung, dan hati diekstraksi dengan $MgCl_2$ 1 M., Tris 0,5 M. Preservasi sampel untuk analisis elektroforesis allozyme dalam *freezer* bersuhu $-20^{\circ}C$.

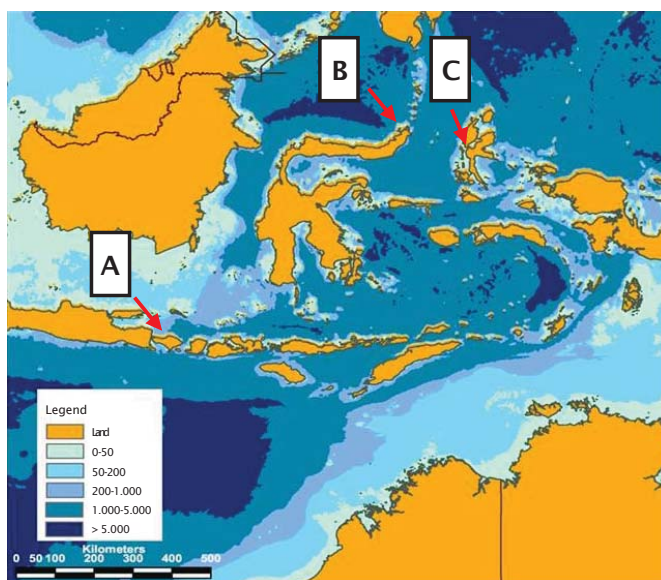
◆ Gel dan buffer

Bufer elektroforesis menggunakan *Citric Acid Aminopolymorpholine* pH 6 yang dibuat dengan mencampur citric acid 15 g dan



Gambar 1. Ikan tuna sirip kuning, *Thunnus albacares* yang ditangkap di perairan Bali Utara

Figure 1. Yellowfin tuna, *Thunnus albacares* captured in North Bali sea



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel ikan tuna sirip kuning (A. Bali, B. Sulawesi Utara, C. Maluku Utara)

Figure 2. Map showing sampling location of yellowfin tuna (A. Bali, B. North Sulawesi, C. North Maluku)

Tabel 1. Deskripsi panjang dan bobot sampel ikan tuna dari tiga lokasi (Bali, Sulawesi Utara, Maluku Utara)

Table 1. Description of length and weight of yellow fin tuna from three locations (Bali, North Sulawesi, North Maluku)

Tanggal Date	Lokasi Locations	Jumlah sampel No. of samples	Spesies Species	Panjang cagak Fork length (cm) ± sd	Bobot Weight (kg) ± sd
2/2/2004	Bali	32	<i>T. albacares</i>	78.72 ± 12.89	10.70 ± 6.92
18/3/2004	(Bali Utara)	40		79.40 ± 20.64	14.7 ± 8.92
2/2/2005		50		84.44 ± 16.90	13.82 ± 11.56
5/4/2004	Sulawesi Utara	63	<i>T. albacares</i>	78.99 ± 12.89	10.50 ± 4.39
1/10/2005	(Kalesey)	50		73.71 ± 9.03	10.30 ± 4.39
11/9/2004	Maluku Utara	46	<i>T. albacares</i>	72.54 ± 38.89	12.28±6.45
11/9/2005	(Ternate, Kodya)	50		70.81 ± 4.47	9.82 ± 6.92

aminoprophylmorpholine 24 mL selanjutnya ditambahkan akuades dengan total volume 1.000 mL. *Hydrolyzed starch potatoes gel* (12% v/w) dibuat dari 48 gram potato *starch* yang dilarutkan dengan 2 mL MgCl₂ 1 M 10 mL KCN; 0,1 N; 8 mL bufer CAAPM-6 dan akuades dengan total volume 400 mL.

◆ Running elektroforesis

Potongan kertas *blotting* yang sudah menyerap enzim pada jaringan ditempelkan berurutan di antara belahan gel. Pada kedua ujung dan tengah ditempelkan marker (*fast blue*). Proses elektroforesis dilakukan pada

refrigerator (4°C) dengan arus konstan 80 mA/cm², dengan voltase 110 volt, selama 240 menit (4 jam).

◆ **Pewarnaan**

Metode analisis mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Sugama & Prijono (1998). Enzim yang dianalisis sebanyak 15 enzim sebagai berikut: *alcohol dehydrogenase* (ADH), *malatedehydrogenase* (MDH), *lactate dehydrogenase* (LDH), *sorbitol dehydrogenase* (SDH), *superoxide dehydrogenase* (SOD), *isocitrate dehydrogenase* (IDH), *Malic enzyme* (ME), μ *glycerolphoshate dehydrogenase* (μ GPD), *posphoglucomutase* (PGM), *glucose phosphate isomerase* (GPI), *6-posphoguconate dehydrogenase* (6-PGD), *mannose phosphate dehydrogenase* (MPI), *esterase* (EST), *aspartate aminotransferase* (AAT), *sarcoplasmic protein* (SP).

Mitokondria DNA

◆ **Ikan uji**

Ikan uji yang digunakan untuk analisis mt-DNA adalah ikan tuna sirip kuning yang telah dikoleksi dari tiga lokasi yang diambil secara acak masing masing berjumlah 25 sampel untuk analisis DNA dari jumlah total 331 ekor ikan sampel untuk analisis allozyme.

◆ **Ekstraksi genome mt-DNA**

Ekstraksi genome mt-DNA dilakukan mengikuti modifikasi metode Ovenden (2000). Jaringan otot daging dihancurkan dalam 500 mL larutan 10% Chelex-100 yang dimasukkan dalam *ependorf tube* dan ditambahkan 5 mL proteinase kinase (20 mg/mL) dan dipanaskan

55°C dalam *waterbath* selama 3--4 jam. Selanjutnya larutan ini dipanaskan lagi pada suhu 89°C selama 8 menit, dan didinginkan pada suhu kamar hingga dingin sebelum di tambahkan 55 mL TE buffer (10 mM Tris pH-8; 1 mM EDTA). Genome mt-DNA dapat diperoleh dengan cara sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Larutan pada lapisan atas dan berwarna jernih merupakan genom DNA dan di pindahkan ke dalam *ependorf tube* baru dan disimpan pada suhu -20°C untuk analisis lebih lanjut.

◆ **Amplifikasi PCR genome mt-DNA**

Genome DNA diamplifikasi menggunakan pasangan primer *forward* CB3R-LT (5'-CACATTAAACCTGAATGATATTT-3') dan *reverse* 12SAR-H (3'-ATAGTG GGGTATCTAATCCC AGTT-5') untuk memperoleh hasil DNA dengan fragmen tunggal (Palumbi & Baker, 1994).

Amplifikasi dilakukan menggunakan beberapa larutan pereaksi dengan total volume 25 μ L yang terdiri atas: *double distilled* H₂O: 14,75 μ L; 2,5 mM dNTP: 2,5 μ L; 10 X PCR bufer 2,5 μ L; primer 1 (*forward*) CB3RL-T: 1,25 μ L; primer 2 (*reverse*) 12SAR-H: 1,25 μ L, taq DNA polymerase: 0,25 μ L; template DNA: 2,5 μ L. *Thermal cycler* untuk amplifikasi DNA terlihat pada Tabel 2.

Sebagai molekuler marker digunakan DNA ladder 1 kb dan 100 bp. Elektroforesis dengan agarose gel 1% dan TBE 0,5x bufer sebagai *running buffer* pada 100 volt selama 30 menit. Hasil amplifikasi *template* DNA selanjutnya dipotong secara terpisah dengan menggunakan 4 enzim restriksi yaitu *Mnl I*, *Msp I*, *Nla III*, dan *Taq I* (Niwa *et al.*, 2003) Setelah 3--4 jam inkubasi pada suhu 37°C kecuali *Taq I* suhu

Tabel 2. Program *thermal cycler* amplifikasi PCR DNA mt-DNA ikan tuna sirip kuning
Table 2. *Thermal cycler program for PCR amplification of mt-DNA yellowfin tuna*

Reaksi <i>Reaction</i>	Siklus <i>Cycle</i>	Suhu <i>Temperature</i>	Lama reaksi <i>Duration</i>
<i>Initial denaturation</i>	1	95°C	3 menit (<i>minutes</i>)
<i>Denaturation</i>		95°C	1 menit (<i>minutes</i>)
<i>Annealing</i>	30	50°C	1 menit (<i>minutes</i>)
<i>Extention</i>		72°C	2 menit (<i>minutes</i>)
<i>Final extention</i>	1	72°C	10 menit (<i>minutes</i>)
<i>Preservation</i>		4°C	-

inkubasi adalah 65°C. Sampel dicampur dengan *loading buffer* dan dielektroforesis pada 1,5% gel agarose dalam 0,5x TBE buffer selama 40 menit. Pewarnaan dengan *ethidium bromide* (5 mg/mL) selama 15 menit, fragmen divisualisasi dengan UV transilluminator pada panjang gelombang 320 nm.

Analisis Data

Uji Chi-square digunakan untuk menentukan keabsahan genotip yang teramati yang diduga dengan hukum kesetimbangan Hardy-Weinberg, dengan derajat bebas (df) = $(n_2 - n) / 2$ di mana n: jumlah alel per lokus (Sokal & Rohlf, 1981). Heterosigositas teramati (H_o) diketahui dengan menghitung genotip yang teramati, dengan menjumlah individu yang heterosigot dengan jumlah individu yang dianalisis. Untuk mengetahui variasi DNA antar populasi, susunan haplotipe untuk masing-masing enzim restriksi dikumpulkan sebagai komposit haplotipe menggunakan analisis molekular TFGA (*tools for population genetic analysis*) version 1.3 (Miller, 1997).

HASIL DAN BAHASAN

Spesifik Jaringan dan Buffer

Tabel 3 merupakan hasil analisis spesifik jaringan dan *buffer* yang baik dipergunakan untuk analisis allozyme pada ikan tuna sirip kuning, *T. albacares*. Dari Tabel 3 terlihat bahwa, ekspresi gen sebagian besar terlihat jelas pada jaringan otot daging dan hati serta *buffer* CAAPM-6 merupakan *buffer* yang sesuai untuk elektroforesis allozyme.

Variasi genetik

Hasil analisis elektroforesis pada 15 enzim terdeteksi 23 lokus dan 4 lokus di antaranya polimorfik yaitu *Idh*-*2 (*isocitrate dehydrogenase*), *Gpi*-2* (*glucose phosphate dehydrogenase*), *Mdh*-1* (*malate dehydrogenase*) dan *Est*-1* (*esterase*).

Lokus *Gpi*-2* dan *Idh**2 dikontrol oleh tiga alel yaitu (A, B, dan C). GPI (*glucose phosphate isomerase*) merupakan golongan enzim yang mengontrol pertumbuhan. Menurut Haris *et al.*, (1976) lokus *Gpi* diperlukan dalam reaksi metabolisme karbohidrat terutama pada jalan pentosa fosfat (*heksosa monofosfat shunt*). Lokus *esterase* dan *malate dehydrogenase* masing-masing dikontrol oleh dua alel. Variasi genetik dari tiga populasi ikan tuna sirip kuning terlihat pada Tabel 4.

Nilai heterosigositas dari masing-masing populasi berkisar antara 0,008--0,022 (rata-rata 0,017). Persentase lokus polimorfik berkisar antara 0,086--0,130 (rata-rata 0,115) dan jumlah alel per lokus antara 1,173--1,391 (rata-rata 1,260) (Tabel 4). Dari hasil tersebut terlihat variasi genetik tertinggi adalah populasi Bali dan Maluku Utara (0,022), akan tetapi jumlah alel per lokus populasi Bali (1,391) lebih tinggi dari populasi Maluku Utara yaitu 1,137. Populasi dengan variasi genetik paling rendah adalah populasi Sulawesi Utara (0,008). Populasi dengan variasi genetik yang tinggi akan memiliki peluang hidup yang semakin tinggi untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Heterosigositas yang tinggi memungkinkan perbaikan mutu genetik populasi dengan mengeksploitasi gen-gen yang menguntungkan. Genotip heterosigositas resesif mengakibatkan detrimental yaitu kekurangan enzim penting yang diproduksi oleh alel dominan yang berhubungan dengan penurunan fekunditas, penurunan daya hidup atau peningkatan mortalitas, penurunan daya tahan terhadap penyakit dan laju pertumbuhan. Variasi genetik suatu makhluk hidup dapat muncul karena mutasi, seleksi alam, pengaruh lingkungan, dan perkawinan. Apabila faktor di atas muncul dapat menyebabkan terjadinya perubahan suatu genetik individu dan selanjutnya terjadi perubahan susunan genetik populasi yang terbentuk dari individu tersebut. Perbedaan nilai heterosigositas menggambarkan adanya perbedaan lingkungan di antara populasi. Pada lingkungan yang stabil akan lebih sedikit ditemukan variasi alel daripada kondisi lingkungan yang labil, karena laju mutasi atau seleksi lingkungan relatif rendah (Sugama *et al.*, 1996).

Mitokondria DNA

Amplifikasi genome mt-DNA menghasilkan fragmen tunggal dengan panjang *fragment* 1.800 bp, seperti pada Gambar 3.

Lokus gen tunggal digunakan untuk mengasumsikan banyaknya alel pada masing-masing profil enzim restriksi menunjukkan bahwa fragmen yang tidak mempunyai *site* restriksi dinyatakan A alel, sedangkan yang mempunyai satu *site* dinyatakan B alel dan seterusnya seperti dinyatakan oleh Chow (1998) dan terlihat pada Gambar 4.

Pola pemotongan dari fragmen mt-DNA dengan menggunakan enzim *Msp* I mempunyai 2 alel yaitu alel A dan B, enzim *Taq* I terdapat 3 alel yaitu A, B, dan C, *Nla* III 2 alel yaitu A dan

Tabel 3. Jaringan spesifik dan bufer yang digunakan dalam analisis elektroforesis allozyme
 Table 3. Tissue specific and buffer systems tested for allozyme electrophoresis

Enzim (Enzymes)	Lokus Locus	Bufer Buffer	Jaringan Tissue
Alcohol dehydrogenase (1.1.1.1)	A dh*	CAAPM-6	hati (liver)
a-Glycero lphosphate dehydro genase (1.1.1.8)	a-Gpd*	CAAPM-6	hati (liver)
Lactate dehydrogenase (1.1.1.27)	Ldh-1* Ldh-2*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
M alate dehydro genase (1.1.1.37)	M dh-1* M dh-2* M dh-3*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
Isocitrate dehydro genase (1.1.1.42)	ldh-1* ldh-2*	CAAPM-6	hati (liver)
P hosphoglucomutase (2.7.5.1)	P gm-1* P gm-2*	CAAPM-6	hati (liver) otot daging (muscle)
6-P hospho gluconate dehydrogenase (1.1.1.44)	6-P gd*	CAAPM-6	hati (liver)
Glucose phosphate iso merase (5.3.1.9)	Gpi-1* Gpi-2*	CAAPM-6	hati (liver) otot daging (muscle)
M alic Enzyme (1.1.1.40)	Me-1* Me-1*	CAAPM-6	hati (liver)
Sarcoplasmic pro tein	Sp-1*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
Esterase (3.1.1.3)	Est-1* Est-2*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
Aspartate amino transferase (2.6.1.1)	A at*	CAAPM-6	hati (liver)
Sorbitol dehydrogenase (1.1.1.14)	Sdh*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
Supero xide dismutase (1.15.1.1)	Sod*	CAAPM-6	otot daging (muscle)
M annose phosphate dehydro genase (5.3.1.8)	M pi*	CAAPM-6	hati (liver)

B sedangkan untuk Mnl I mempunyai 2 alel yaitu A dan B.

Dari empat enzim (Msp I, Taq, Nla III, dan Mnl I) mengasilkan 15 komposit haplotipe dari tiga populasi ikan tuna (Tabel 5). Level variasi genetik yang ditunjukkan dari *haplotype diversity* pada populasi Bali (0,886), Sulawesi Utara (0,790), dan Maluku Utara (0,785). Hasil rata-rata dari *haplotype diversity* adalah 0,857. Nilai ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan jenis ikan laut perenang cepat lainnya seperti ikan hiu (0,64) (Heist, 1999). Tingginya variasi genetik pada ikan tuna dimungkinkan karena

keadaan populasinya belum banyak terganggu khususnya populasi Bali dan Maluku Utara. Selain itu keadaan ini juga menunjukkan bahwa ikan tuna sirip kuning mempunyai migrasi yang cukup luas jika dibandingkan dengan jenis ikan laut lainnya, sehingga peluang *breeding* atau persilangan antar populasi (*stock*) lebih besar (Wild, 1994).

Haplotipe 5 (ADAC) merupakan haplotipe yang paling banyak ditemukan pada populasi Sulawesi Utara dan Maluku Utara, sedangkan haplotipe 1 (ADBB) paling banyak ditemukan pada populasi dari Bali sedangkan haplotipe

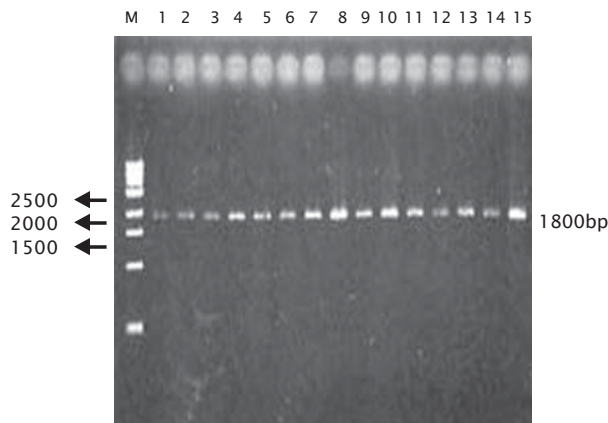
Tabel 4. Variasi genetik populasi ikan tuna sirip kuning *T. albacares* dari alam, berdasarkan 23 lokus hasil analisis elektroforesis
 Table 4. Summary of genetic variation of yellow fin tuna, *T albacares* population, based on electrophoretic analysis of 23 loci

Parameter (Item)	Bali	Sulawesi Utara North Sulawesi	Maluku Utara North Maluku
Jumlah sample <i>No of sample examined</i>	122	113	96
Jumlah lokus <i>No of loci examined</i>	23	23	23
Jumlah lokus polimorfik <i>No of polymorphic loci</i>	3	2	3
Persentase lokus polimorfik <i>% of polymorphic loci</i>	0.130	0.086	0.130
Jumlah alel per lokus <i>No of allele per locus</i>	1.391	1.217	1.173
Heterosigositas <i>Heterozygosity :</i>	0.022	0.008	0.022

10 (ABBB) ditemukan pada ketiga populasi. Beberapa haplotipe *shared* antara populasi dari Sulawesi Utara dan Maluku Utara tetapi tidak ada *shared* alel dengan populasi Bali. Keadaan ini menunjukkan bahwa populasi Sulawesi Utara dan Maluku Utara dapat ditempatkan pada satu *gen pool*.

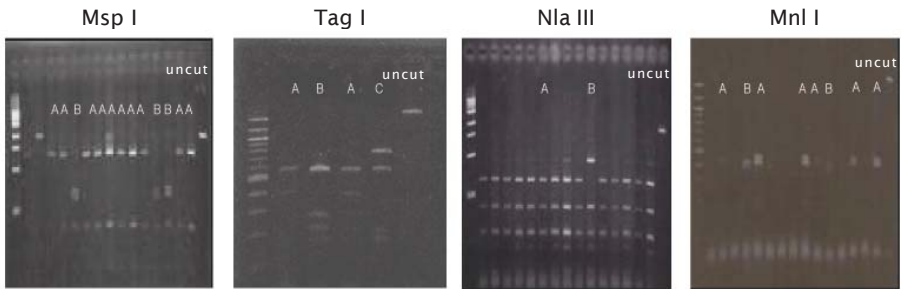
Jarak genetik (*genetic distance*) (Rogers, 1972; Raymond & Rousset, 1995) ketiga populasi: Maluku Utara, Sulawesi Utara, dan Bali terlihat pada dendrogram (Gambar 5).

Jarak genetik dari ketiga populasi berkisar antara 0,003--0,023 (rata-rata 0,016). Hal ini menunjukkan bahwa ikan tuna mempunyai migrasi yang cukup luas. Populasi Maluku Utara dan Sulawesi Utara mempunyai jarak genetik terdekat yaitu 0,003. Hal ini mengindikasikan bahwa jarak genetik populasi berkorelasi erat dengan jarak geografis, selain itu pula dapat diasumsikan bahwa perairan Sulawesi Utara dan Maluku Utara sering digunakan sebagai jalur migrasi dengan adanya kesamaan alel pada kedua populasi tersebut, jika dibanding-



Gambar 3. Fragmen tunggal mt-DNA hasil amplifikasi PCR dari ikan tuna sirip kuning (*T. albacares*)

Figure 3. Single band amplification of mt-DNA from yellowfin tuna, *T. albacares*



Gambar 4. Pola fragmen dari hasil pemotongan mt-DNA dengan menggunakan enzim restriksi Msp I, Tag I, Nla III, dan Mnl I

Figure 4. Pattern of mt-DNA of *T. albacares* after digested by restriction enzymes Msp I, Tag I, Nla III, and Mnl I

Tabel 5. Komposit haplotipe dari tiga populasi ikan tuna sirip kuning, *Thunnus albacares*

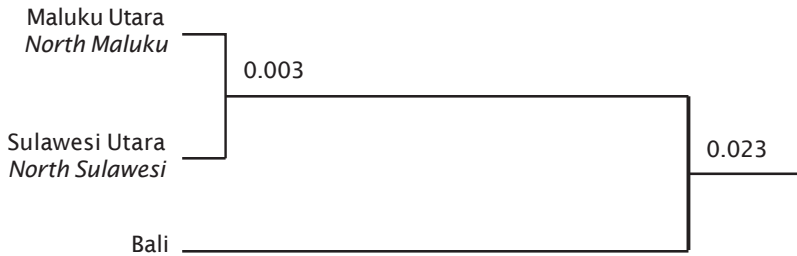
Table 5. Haplotype composites of three populations of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*

No.	Haplotype <i>Haplotype</i>	Bali	Sulawesi Utara <i>North Sulawesi</i>	Maluku Utara <i>North Maluku</i>
1	A D B B	8	0	0
2	A C B E	4	0	0
3	A C A B	0	2	1
4	B D A B	2	0	0
5	A D A C	0	16	12
6	D A B E	1	0	0
7	A A B B	0	1	5
8	A C B B	0	1	0
9	A B B B	5	0	0
10	A B B B	2	2	2
11	B C B B	0	0	1
12	B C A C	2	0	0
13	A C A D	0	0	1
14	A C A C	0	3	2
15	A B A B	1	0	3
Diversitas haplotipe <i>Haplotype diversity</i>		0.886	0.750	0.865

kan dengan populasi Bali (0,023). Ikan-ikan perenang cepat mempunyai jarak genetik yang lebih besar pada sub populasinya jika dibandingkan dengan habitat lainnya seperti ikan yang hidup di perairan karang berkisar antara 0,0001--0,002 (Sugama & Prijono, 1998).

KESIMPULAN

Berdasarkan data dari elektroforesis allozyme, populasi ikan tuna sirip kuning (*T. albacares*) yang berasal dari perairan Bali, Sulawesi Utara, dan Maluku Utara mempunyai



Gambar 5. Jarak genetik ikan tuna sirip kuning (*T. albacares*) dari 3 lokasi
 Figure 5. Genetic distance of yellowfin tuna (*T. albacares*) from 3 locations

nilai heterosigositas 0,022; 0,008; dan 0,022. *Haplotype diversity* dari mt-DNA adalah 0,886; 0,750; dan 0,865. Populasi Bali mempunyai nilai variasi genetik tertinggi dengan heterosigositas 0,022 dan *Haplotype diversity* dari mt-DNA adalah 0,886. Populasi Maluku Utara dan Sulawesi Utara mempunyai jarak genetik terdekat yaitu 0,003 selanjutnya adalah populasi Bali dengan jarak genetik 0,023. Metode elektroforesis allozyme dan mt-DNA yang dipergunakan untuk mengetahui variasi genetik ikan tuna dari berbagai lokasi memberikan hasil yang paralel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Adi Hanafi sebagai Kepala Balai Besar Riset Perikanan Budidaya laut, Gondol-Bali, Bapak Akio Nakazawa *expert tuna propagation project Overseas Fisheries Cooperation Foundation-Jepang* dan seluruh staf teknisi Tuna dan bioteknologi BBRPBL-Gondol atas segala masukan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan. Penelitian ini dibiayai dari anggaran APBN Tahun 2004 dan 2005.

DAFTAR PUSTAKA

Chow, S. 1998. Universal PCR primer for Calmodulin gene intron in fish. *Fisheries Science*. 64(6): 999—1,000.
 Elliott, N.G. 1996. Allozyme and Mitochondrial DNA analysis of the tropical saddle-tail Sea perch, *Lutjanus malabaricus* (Schneider), from Australian waters. *Mar. Freshwater Res.* 47: 869--876.
 Haris, H. and D.A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. *Human Genetics*. American Elsevier, New York. 428 pp.
 Hedgecock, D., R.A. Shleser, and Nelson. 1976. Applications of biochemical genetics to

aquaculture. *J. Fish. Res., Board Can.* 3(33): 11,108--11,109.
 Heist, E.J. 1999. A review of population genetics in sharks. *Am F. S. S. Symp.* 23: 161--168.
 Imron, K. Sugama, K. Sumantadinata, and K. Soewardi. 1999. Genetic variation in cultured stocks of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Indonesia. *Indonesian Fish. Res. J.* 5(1): 10--18.
 Johnson, M.S., and L.M. Joll. 1993. Genetic subdivision of the pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson, 1901) (Mollusca: Pteridae) in northern Australia. *Australian J. Mar. Freshwater Res.* 44: 673.
 Lester, L.J. 1983. Developing a selective breeding program for penaeid shrimp mariculture. *Aquaculture*. 33: 41--50.
 Lavery, S. and J.B. Shaklee. 1989. Population genetics for two tropical sharks, *Carcharhinus tilsoni* and *C. sorrah*, in northern Australia. *Australian J. Mar. Freshwater Res.* 40: 451.
 Miller, M.P. 1997. *Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA)*. Version 1.3, A Windows ® program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Department of Biological Sciences-Box 5640. Northern Arizona University, Flagstaff. 30 pp.
 Niwa, Y., A. Nakazawa, D. Margulies, V.P. Scholey, J.B. Wexler, and S. Chow. 2003. Genetic monitoring for spawning wcology of captivity yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) using mitochondrial DNA. *Aquaculture*. 218: 387--395.
 Ovenden, J. 2000. Development of restriction enzyme markers for red snapper (*Lutjanus erythropterus* and *Lutjanus malabaricus*) stock discrimination using genetic variation in mitochondria DNA. *Molecular Fish-*

- eries Laboratory, Southern Fisheries Centre. *Produces for CSIRO Marine Laboratories as Part of the ACIAR Indonesia Snapper Project*. 36 pp.
- Palumbi, S.R. and C.S. Baker. 1994. Contrasting population structure from nuclear intron sequences and mtDNA of humpback whales. *Mol. Biol. Evol.* 11: 426--435.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (Version 1.2); Population genetic software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248--249.
- Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. p. 145--153. In: *Studies in genetics*. VII. Ed., M.R. Wheeler. Univ. Texas Publ. 7213, 354 pp.
- Sokal, R.R. and R.G.. Rohlf. 1981. *Biometry*. Freeman and Co. San Francisco. California. 776 pp.
- Sugama, K., N. Taniguchi, and S. Umeda. 1988. An experimental study on genetic drift in hatchery population of red sea bream. *Bull. Japan Sci. Soc.* 54: 739--744.
- Sugama, K. and A. Prijono. 1998. Biochemical genetik differentiation among wild populations of Milkfish (*Chanos-chanos*) in Indonesia. *Indonesian Fish. Res. J.* IV(1): 11--18.
- Sugama, K., Haryanti, and F. Cholik. 1996. Biochemical Genetics of Tiger Shrimp *Penaeus monodon*: Description Electrophoresis Detectable Loci. *Indonesian Fish. Res. J.* II(1): 19--28.
- Taniguchi, N., H.S. Han, and S. Tsujimura. 1994. Variation in some quantitative traits of clones produced by chromosome manipulation in Ayu, *Plecoglossus altiveliss*. *Aquaculture*. 120: 53--60.
- Wild, A. 1994. A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean. *FAO Fish. Tech. Pap.* 336: 52--107.
- Wibowo, A.H. 2001. *Analisis Variasi Gen dan Struktur Populasi Genetik Ikan Napoleon Wrasse (Cheillinus undulatus)*. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang. 53 pp.
- Yeatman, J. and J.A.H. Benzie. 1994. Genetic structure and distribution of *Photololigo* spp. In Australia. *Marine Biology* (Berlin). 118: 79--87.